

日本解剖学会

第77回中国・四国支部学術集会

会期：令和5年10月14日（土）、15日（日）
会場：鳥取大学

1 骨芽細胞分化における蛋白質脱リン酸化酵素と O-GlcNAc 転移酵素の動態

○岡村 裕彦, Heriati Sitosari, 福原 瑠子, 池亀 美華
岡山大学・学術研究院医歯薬学域・口腔形態学分野

蛋白質翻訳後修飾は様々な細胞機能調節に関わっている。O-GlcNAc 糖鎖修飾と蛋白質脱リン酸化は蛋白質の同一のセリン・スレオニン上で生じることから何らかの関連があると考えられる。我々は、蛋白質脱リン酸化酵素 PP2A の発現と活性の低下が骨芽細胞の分化に重要であることを報告した。本研究では、骨芽細胞の分化における PP2A の活性と O-GlcNAc 転移酵素 OGT の局在の変化および培養液中のグルコース濃度の影響について解析した。骨芽細胞 MC3T3-E1 を分化誘導培地で培養すると PP2A の活性が低下し、OGT が核内から核外へと移行した。PP2A 阻害剤で処理すると OGT は核内から核外へと移行した。高濃度のグルコースは、PP2A の活性を増加させ、OGT の移行を阻害した。また、高濃度のグルコースの存在下では骨芽細胞の分化に重要な転写因子 Runx2 と Sp7 の O-GlcNAc 糖鎖修飾が亢進していた。以上の結果より、PP2A の活性は OGT の核外移行を制御することが分かった。高濃度のグルコースは PP2A の活性を高く維持することで、OGT の核外移行を阻害し、骨芽細胞の分化を抑制すると考えられる。また、骨芽細胞において核内の OGT は Runx2 と Sp7 の O-GlcNAc 型糖鎖修飾を介して転写活性の調節に関与すると考えられた。COI: なし

2 破骨細胞の分化および骨吸収における C 型レクチン受容体 Clec4a2, Clec4d の役割の解析

○藤田洋史 1), 田井雄馬 2), 大野充昭 3), 上田悠都 2), 大橋俊孝 3), 大内淑代 1)
岡山大・医歯薬・細胞組織学、2)岡山大・医・医、3)岡山大・医歯薬・分子医化学

パターン認識受容体の一種である C-type lectin receptor (Clec) family は、ダメージ関連分子パターンを認識し、不要になった細胞のクリアランスに関与している。一方で、生体内で骨吸収を担う破骨細胞は、古い骨を識別して骨吸収を行う。私たちは、破骨細胞に存在する Clec family 分子 Clec4a2 および Clec4d の機能を明らかにするため、両遺伝子についてゲノム編集を行いノックアウト (KO)マウスを作成した。Clec4a2 KO または Clec4a2/Clec4d double KO (DKO) マウスより骨髄マクロファージを得て、破骨細胞に分化誘導した結果、野生型に比べ破骨細胞の形成が促進された。また、Clec4d KO 骨髄マクロファージにおいては、破骨細胞形成は促進されなかった。また、Pit formation assay により、Clec4a2 KO または Clec4d KO 由来の破骨細胞は、WT に比べ骨吸収面積が拡大することが明らかとなった。DKO マウス (8 週齢、雄) の骨形態解析により、DKO で石灰化軟骨および海綿骨表面に局在する破骨細胞形成が促進される一方で、軟骨・骨吸収は促進されていなかった。以上の結果より、Clec4a2 は *in vitro* で破骨細胞分化において抑制作用を持ち、骨吸収を抑制していることが明らかとなった。一方、Clec4d は破骨細胞分化に影響せず骨吸収を抑制していることが明らかになった。現在、*in vivo* で、破骨細胞形成が促進されるにもかかわらず、骨吸収に影響しない原因を探索している。

3 マクロファージの選択的取込とエンドソーマル・ソーティングの蛍光ナノイメージング

中村教泰, 中村純奈, 塩浜康雄, 望月ちひろ

山口大・医・器官解剖学

マクロファージは生体の全ての組織に存在する免疫細胞で、生体に侵入した様々な異物や病原体、体内の変性物質などを認識し、エンドサイトーシス(取込)を行い、処理する。マクロファージは生体の恒常性維持、感染など免疫応答に重要であると共に病態にも関与している。マクロファージの取込はその機能発現の起点の一つとなるが、その詳細はまだ明らかにされていない。我々はナノ医学の観点から独自に開発した有機シリカ粒子を用いてマクロファージの取込の解明と制御を目指し、研究を進めている。様々な表面構造の蛍光有機シリカ粒子を作製し、培養細胞を用いてマクロファージ-粒子相互作用の解析を行った。マクロファージの取込は粒子の表面に結合したポリエチレングリコールやポリエチレニミンなどのポリマーの種類や長さの違いにより異なり、その程度や様式が細胞毎に異なることが明らかになった。さらに表面構造の異なる 2 種類の粒子を同時に取込させたマクロファージの細胞内ではエンドソーム毎に含有される粒子に違いがあり、小胞内での仕分け(エンドソーマル・ソーティング)を示す所見が得られた。これらはマクロファージが粒子の表面構造の違いを認識し、細胞毎の取込、さらにエンドソーム毎の含有に選択性があることが示された。免疫応答においてマクロファージの取込の選択性の機序と意義の解明が重要と考えられた。

4 Rab10 陽性管状エンドサイトーシス経路による PD-L1 の細胞内輸送

○石川悠地^{1*}、川合克久¹、荒木伸一¹

¹香川大学医学部組織細胞生物学、*医学科 5 年

PD-L1 (Programmed cell Death1-Ligand 1) は、がん細胞やマクロファージ等の抗原提示細胞の細胞表面に発現する免疫チェックポイントタンパク質であり、がん免疫療法のターゲットやバイオマーカーとして注目されている。しかし、その細胞内輸送経路や制御メカニズムについてはよくわかっていない。我々は、マクロファージのマクロビノサイトーシスの初期過程から派生する Rab10 陽性管状エンドソームを見出し、この管状エンドソームが Rab5、Rab7、Lamp1 など通常のエンドソーム・リソソームマーカーを持たないことから新規エンドサイトーシス経路として報告した。この新規エンドサイトーシス経路が何をどこに輸送するのかは不明であるため、さまざまな種類の蛍光トレーサーや GFP 融合タンパク質発現、免疫抗体法で探索した。この中で、PD-L1 が Rab10 陽性エンドソームに取り込まれることが示されたので報告する。

RAW264 マクロファージ細胞をインターフェロンγで刺激すると、細胞膜表面に PD-L1 が免疫蛍光法で観察される。この細胞に PI3K 阻害剤で PMA 刺激をすると、マクロビノソーム前駆構造のカップから Rab10 陽性管状エンドソームが伸び、この膜に PD-L1 の免疫反応が検出された。EGFP-PD-L1 の強制発現でもカップ状構造から Rab10 陽性管状エンドソームへの取り込みがみられ、PD-L1 陽性の構造は、ゴルジ域中心部に向かって輸送されることがライブセルの観察で明らかとなった。また Rab10 過剰発現で、PD-L1 陽性管状構造が増加する傾向があった。以上のことから、Rab10 陽性エンドサイトーシス経路が PD-L1 の細胞内輸送経路として機能していることが示唆される。

5 概日振動する一次繊毛長の生理学的意義

中里亮太、松田悠生、Faryal Ijaz、池上浩司

広島大学医系科学研究科解剖学及び発生生物学研究室

【背景】一次繊毛は細胞外へ突出した一本の毛の様な構造体である。一次繊毛上には様々な受容体やチャネルが集積し、細胞外のシグナルを受容するアンテナとしての機能が知られている。最近、発表者らは、一次繊毛の長さが約 24 時間周期で変動する概日振動を示すことを明らかにした。本研究では概日振動する一次繊毛長の生理学的意義について検討を行った。【方法】本研究ではマウス線維芽細胞株 NIH/3T3 を一次繊毛上に集積する受容体 Smoothened (SMO) のアゴニスト (SAG) に曝露することで、概日振動する一次繊毛長の細胞外シグナルへの影響について解析を行った。一次繊毛の長さが極小時と極大時の NIH/3T3 をそれぞれ SAG に曝露し、SMO の活性化により発現が上昇する Gli1 および Ptch1 の mRNA 発現量を qPCR 法により測定した。【結果】10 nM SAG 曝露細胞群では非曝露細胞群に比べ Gli1 および Ptch1 mRNA 発現量が上昇した。また、一次繊毛の長さが極小時の NIH/3T3 を 10 nM SAG に曝露した細胞群では極大時に比べ Gli1 および Ptch1 mRNA 発現の上昇量が著明に増加した。【考察】以上の結果から、一次繊毛の長さが概日振動することで、細胞外シグナルに対する感受性も 24 時間周期で変化する可能性が示唆された。

6 去勢抵抗性前立腺がん細胞 DU-145 に対する CYP11A1 阻害剤とスタチンの併用効果の検討

田代 二郎¹, 割田 友子², 杉浦 曜大¹, 入江 七海³, 石川 拓郎⁴, 割田 克彦¹

¹鳥取大院 共同獣医学研究科, ²関西学院大 生命環境学部, ³関西学院大院 理工学研究科, ⁴愛知医大 医・解剖

【背景】スタチンは、コレステロール合成系を抑制することで制がん効果を発揮するが、一部のがん細胞はスタチンに対し抵抗性を示す。我々は以前、ステロイド合成の律速酵素である CYP11A1 のノックダウンが、スタチンの標的酵素である HMGCR の発現抑制を介して、去勢抵抗性前立腺がん (CRPC) 細胞 DU-145 のスタチン感受性を高めることを報告している。そこで本研究では、CYP11A1 阻害剤とスタチンとの併用効果を検討した。【方法】CYP11A1 阻害剤 (ケトコナゾール, ミトタン) の存在下または非存在下において、DU-145 細胞に 0-100 μM のアトルバスタチンを 72 時間処置した後、WST-8 法により細胞生存率を測定し、50%阻害濃度 (IC₅₀) を決定した。また、スクラッチアッセイによる細胞運動の評価、HMGCR および転写因子 SREBP2 のタンパク発現量の解析を行った。【結果と考察】ミトタンは、スタチンの細胞増殖抑制効果をわずかに増強したものの、IC₅₀ には影響しなかった。一方、ケトコナゾールは、スタチンの細胞増殖抑制効果を著しく増強するとともに、スタチンの IC₅₀ を有意に低下させた。また、ケトコナゾールとスタチンの併用は、DU-145 の細胞運動を有意に抑制した。これまでに、CYP11A1 siRNA が、転写因子 SREBP2 の抑制を介して、HMGCR の発現を低下させることが明らかとなっている。ケトコナゾールは、SREBP2 の活性化を促進したにも関わらず、スタチンによる HMGCR の発現上昇をわずかに抑制した。以上より、ケトコナゾールは、SREBP2 非依存的に HMGCR の発現を抑制し、DU-145 のスタチン感受性を高める可能性が示唆された。

7 Changes in chondroitin sulfate/dermatan sulfate content during 3T3-L1 adipocytes differentiation and its potential in controlling adipogenesis

Danang Dwi Cahyadi¹, Katsuhiko Warita^{1,2}, Naoko Takeda-Okuda³, Jun-ichi Tamura³, Yoshinao Z. Hosaka^{4*}
¹Joint Grad Sch Vet Sci, Tottori Univ, ²Dept Vet Med, Fac Agri, Tottori Univ, ³Dept Agri Life Env Sci, Fac Agri, Tottori Univ, ⁴Dept Bioresource Sci, Fac Agri, Kyushu Univ

Chondroitin/dermatan sulfate (CS/DS) is a type of glycosaminoglycan (GAG) found in animal tissues. There are different types of CS/DS, including O, A, C, D, and E units, which depend on the sulfation pattern in repeating units of D-galacturonic acid (GlcA) or L-iduronic acid (IdoA) and N-acetyl-D-galactosamine (GalNAc). Our aim was to analyze the profile of CS/DS in 3T3-L1 cells before and after adipogenic induction. CS/DS content and composition as well as the molecular weight (Mw) were analyzed by using high-performance liquid chromatography. Expression of genes related to CS/DS biosynthesis, degradation, and sulfation were analyzed by using RT-qPCR. We found that CS/DS content and GAGs' Mw were markedly reduced in the differentiated (DI) group compared to the non-differentiated (ND) group. CS biosynthesis-related genes, *Csgalnact1*, *Csgalnact2*, and *Chpf* was also decreased in the DI group. These results suggest that increasing CS/DS abundance might control adipocyte differentiation. Furthermore, the A unit was the major CS/DS disaccharide in 3T3-L1 cells, but the DI group had a higher CS-A. This was consistent with the increased expression of *Chst12* that encodes the sulfotransferase for CS-A formation, therefore resulting in the absence in GlcA and IdoA residues of the O unit in the DI group. These qualitative and quantitative changes in CS/DS reveal valuable insights into adipocyte development. In addition, to clarify whether CS abundance affects adipocyte differentiation, 3T3-L1 cells were treated with CS derived from cartilaginous fishes at various concentrations. It was revealed that such CS substrates could inhibit lipid accumulation. Overall, this study provides evidence of the important correlation between CS and adipocyte differentiation, as well as antiobesity potential of CS.

8 ウシおよびマウスの出生後発達に伴う網膜の組織学的構造変化

兵頭 宗熾¹, 今井 啓之¹, 加納 聖², 目下部 健¹

¹山口大学 共同獣医学部 獣医解剖学研究室, ²山口大学 共同獣医学部 獣医発生学研究室

哺乳動物の視覚成熟速度には種差がある。出生直後の新生仔において、早成性動物のウシは高度な視覚を有するが、晩成性動物のマウスは開眼まで視覚を持たない。しかし両者の視覚発達の詳細を比較した報告は少ない。本研究では両動物間における出生後の網膜発達の差異を探ることを目的とした。黒毛和種牛の出生後 0-540 日齢 (P0-540)、および ICR マウスの P0-240 から眼球を採材した。眼球サイズの計測に加え H-E 染色像から網膜の厚さ計測を行い、免疫組織化学染色によりアポトーシスと細胞増殖について評価を行った。ウシ眼球は P15 まで急激に増大したが、網膜は P0 で最も厚く、以降は離乳早期である P60 まで薄化を続けた。マウス眼球は開眼期 (P12-14) と離乳期 (P18-21) にかけて増大した。しかし網膜の総厚は開眼期まで一度肥厚化するが、P35 にかけてはウシ同様の薄化を示した。視細胞層、外・内網状層は P0 から P28 までは肥厚化したが、P35 までに急激に薄化し以降は一定の厚さで維持された。一方で外・内顆粒層、視神経細胞層は P0 で最も厚く、P35 まで薄化を続け以降は一定の厚さとなった。ssDNA, PCNA 陽性細胞はどちらも新生仔網膜で少数ではあったが、前者はウシで P420、マウスで P42 まで、後者はウシで P23、マウスで P7 まで確認された。両種の間で網膜発達過程には差異が存在するが、薄化は共通して網膜のその成熟に必要な正常変化であると考えられる。特に離乳期付近の組織学的変化が大きいことから、乳汁中成分や授乳行動が網膜の薄化に大きく関与する可能性が考えられる。

9 マウス半球間抑制神経回路に与えるアセチルコリン神経修飾の影響

半田 高史、張 晴、相澤 秀紀 (広島大学・医・神経生物学)

大脳皮質運動野における半球間抑制は、半球間を結ぶ交連神経細胞が反対側の抑制性介在細胞を介した神経回路により実現される。半球間抑制は反対側の活動を抑えることで緻密な運動実行を可能にする役割を担う。一方、その抑制機能が神経修飾作用によってどのような影響を受けるか分かっていない。アセチルコリンは、運動学習や脳卒中後の運動機能障害からの回復に重要な役割を果たす神経伝達物質であり、広域大脳皮質領域に放出される。本研究では、アセチルコリンが交連神経細胞の活動による反対側の神経活動に与える影響が大脳皮質の層レベルでどのように異なるかを検討した。右半球の神経活動を光遺伝学的に惹起し、左半球運動野の大脳皮質全層から局所フィールド電位を記録した。ムスカリン性アセチルコリン受容体を薬理的に阻害した場合、大脳皮質 5/6 層で半球間抑制が促進された。アセチルコリンが半球間抑制を抑える (脱抑制する) 可能性が示唆された。この現象を説明しうる神経回路モデルについて議論したい。

10 一夫一婦制げっ歯類の痛みの心理社会的修飾モデルにおける痛み行動と関連脳領域の反応性

大迫 洋治¹, 奥田 教宏^{1,2}, 中根 裕信¹

¹高知大学医学部解剖学講座, ²土佐リハビリテーションカレッジ

痛みは個人的な経験であり、生物学的、心理的、社会的要因により影響を受けることが知られている。臨床においても、心理社会的問題を抱えていると痛みが難治化すると報告があるが、その因果関係は不明である。我々は雌雄間で非常に強い絆を形成する一夫一婦制げっ歯類を用いて痛みの心理社会的修飾モデルを確立した。絆を形成した雌雄ペアをパートナーと別離させると (パートナーロス)、新規環境下で不安行動が増加し、後肢足底部の機械的刺激閾値の低下とホルマリン注射による炎症惹起での痛み行動の増悪がみられた。さらに、パートナーロスに伴う痛み関連脳領域の反応性の変化を検証するために、足底部ホルマリン注射後の Fos 蛋白の発現についてパートナー維持群とロス群で比較解析を行った。その結果、維持群・ロス群ともに帯状回、島、扁桃体、体性感覚野といった多くの痛み関連脳領域で炎症痛による Fos 発現の有意な増加が検出されたが、前頭前野と側坐核においては、ロス群で維持群より有意に発現が少なかった。前頭前野と側坐核は中脳ドーパミン回路の主要な構成脳領域であり、中脳ドーパミン回路が鎮痛に関与することを示す報告が累積されてきていることから、本モデルにおける痛みの増悪に、心理社会的ストレスによる中脳ドーパミン回路の機能変調が関与している可能性が示唆される。

11 生後マウス脳室下帯におけるニューロン新生と帯状皮質-線条体ニューロンの関係

森 徹自¹, 大田 麗¹, 吉田 亮太¹

¹鳥取大学医学部保健学科生体制御学講座

側脳室周囲の脳室下帯(Subventricular zone:SVZ)は、哺乳類の脳における成体ニューロン新生領域のひとつである。SVZ 由来の神経前駆細胞(TypeA 細胞)は、グリアチューブと呼ばれるアストロサイトのトンネル構造を主体とする吻側移動経路を通じて、嗅球へ移動する。SVZ 由来の神経前駆細胞の分裂増殖や移動には、各種神経伝達物質が関与する。グルタミン酸もその一つであり、TypeA 細胞にグルタミン酸受容体が発現している事が示されているが、多くの研究は in vitro で行われてきた。しかし、in vivo においてグルタミン酸の SVZ への入力起源は不明である。大脳皮質から線条体に対して、豊富なグルタミン酸入力があり、特に SVZ 直近の内側線条体へは、帯状皮質を含む内側大脳皮質からの入力が見られる。そこで我々は、帯状皮質投射ニューロンの軸索走行を詳細に検討したところ、TypeA 細胞を含む SVZ の神経幹前駆細胞と密に接触しながら走行していた。さらに、帯状皮質から線条体への軸索投射を発生学的に検討した。その結果、SVZ の形態的な完成時期と帯状皮質-線条体投射の成熟時期が一致していた。また、帯状皮質に両側性の損傷を加え、線条体への投射経路を破壊して SVZ におけるニューロン新生への影響を検討した。その結果、グリアチューブから外れて線条体の実質を走行している TypeA 細胞が、有為に増加していた。以上の結果より、帯状皮質投射ニューロンは、SVZ の TypeA 細胞に作用し、グリアチューブ内を鎖状に移動する事を促進する作用を持つことが分かった。

12 生後マウス脳室下帯に存在する神経幹細胞の形態学的変化と分化

吉田亮太¹、森 徹自¹¹鳥取大学医学部保健学科生体制御学講座

生後のマウスの脳室下帯 (SVZ) には、神経幹細胞である TypeB1 細胞が存在し、最終的に嗅球ニューロンに分化する。TypeB1 細胞は放射状グリア様の形態で、アストロサイトマーカーの GFAP を発現し、細胞周期が非常に長いという特徴を持つ。分化に伴う TypeB1 細胞の形態変化については不明な点が多い。なぜなら、GFAP をはじめとするアストロサイトのマーカー分子は、主に太い突起に局在するため、これらのマーカー分子に対する抗体を用いた免疫組織化学染色では TypeB1 細胞の形態の全貌を可視化することは不可能なためである。

そこで、GFAP プロモーターで DsRed を発現するプラスミドベクターを、生後 0 日マウスの SVZ にエレクトロポレーション法で導入した。この方法により TypeB1 細胞を特異的に DsRed で標識することができる。この解析から、TypeB1 細胞は、形態学的に 3 つのサブタイプに分類できることが判明した。この 3 つの形態は、GFAP や、増殖細胞のマーカー分子 (MCM2、Ki67) を用いた二重免疫組織化学染色により、分化の進行によって変化してゆくことが分かった。

また、TypeB1 細胞の重要な特徴として、線毛を介して脳脊髄液と接触する特徴がある。CFSE (Carboxyfluorescein succinimidyl ester) を生後 3 週の側脳室に注入した。この解析により、TypeB1 細胞の中には、側脳室から離れた SVZ に位置して、脳脊髄液と接触しない細胞が存在する可能性が示唆された。

13 神経幹細胞分化におけるヒストン脱アセチル化酵素 HDAC の機能解析

福田桃子、藤田 幸

鳥取大学 医学部医学科 解剖学講座 (発生生物学)

ヒストンアセチル化やメチル化などの修飾は、遺伝子発現の変化を介して様々な生命現象に関連している。ヒストンのアセチル化修飾によって、DNA が緩み、転写因子などがアクセスしやすい緩いクロマチン構造 (ユークロマチン) となる。反対に、ヒストンの脱アセチル化によって、クロマチンの構造は密になり、転写因子などがアクセスしにくい状態となる (ヘテロクロマチン)。したがって一般的には、ヒストンアセチル化酵素 HAT は転写を活性化化する方向に働き、ヒストン脱アセチル化酵素 HDAC は転写を抑制する方向にはたらく。

HDAC はヒストンのみならず、ヒストン以外のタンパク質の脱アセチル化も担い、その標的によって生体内の様々な細胞で多様な働きを担う。例えば神経系では、ヒストン修飾の変化と神経発達障害、精神疾患との関連が報告されている。そのため、HDAC は創薬標的としても注目されている。哺乳類には少なくとも 18 種類の HDAC が発現しており、これらは構造や機能の違いによって、Class I、II、III、IV の 4 つのファミリーに分類されている。発表者のグループは、これまでに Class I HDAC の阻害による神経回路形成への影響を調べてきた。Class I HDAC 阻害剤による神経幹細胞分化への影響を検証したので、その内容について発表・議論したい。

14 STB/HAP1 の細胞保護作用に寄与するアミノ酸領域の探索

○野崎 香菜¹、柳井 章江^{1,2}、Md Nabiul Islam¹、升本 宏平¹、篠田 晃¹

1 山口大・医・神経解剖学、2 山口大・医・基礎検査学

斑点小体 (stigmoid body: STB) は我々が同定した細胞内封入体であり、主要構成分子として HAP1 (huntingtin associated protein 1) を持つことが分かっている。HAP1 はハンチントン病や球脊髄性筋萎縮症 (SBMA) のポリグルタミン病モデル培養細胞における細胞死に対して保護作用をもつことから、我々は STB および HAP1 (STB/HAP1) を内在性の細胞保護因子とみなしている。

また我々は近年、STB/HAP1 がプロテアソーム活性阻害剤により誘導された細胞死に対しても保護作用を示すことを見出した。プロテアソーム活性は老化に伴い低下し、数々の神経変性疾患の発症トリガーとなる因子のひとつであると考えられている。すなわち、STB/HAP1 の細胞保護作用はポリグルタミン病だけでなく、老化に伴う多くの神経変性疾患に対しても有効である可能性が高いと期待される。

今後、STB/HAP1 の保護機能を臨床応用することを目指すにあたり、保護機能に必須となるアミノ酸領域を特定することは非常に重要である。そこで本研究では、HAP1 アミノ酸配列のうち細胞保護機能に直結する部位の特定を試みた。HAP1 アミノ酸配列を幾つかに断片化し培養細胞に発現させ、STB 形成の有無や断片化 HAP1 の保護機能について形態学的、生化学的に解析した。その結果、一部の断片化 HAP1 が元の完全長 HAP1 よりもさらに強い細胞保護作用を有することが分かった。今後、この断片化 HAP1 の細胞保護効果について *in vivo* レベルで解析する予定である。

15 Immunohistochemical relationships of STB/HAP1 with Choline acetyltransferase in the mouse forebrain with special emphasis on striatum and basal forebrain nuclei

Mirza Mienur Meher^{1,2}、Md Nabiul Islam¹、Akie Yanai²、Marya Afrin¹、Mir Rubayet Jahan³、Nanako Izumi²、Kanao Nozaki¹、Koh-hei Masumoto¹、Koh Shinoda¹ (¹Div. of Neuroanatomy, ²Dept. of Basic Laboratory Sciences, ³Blood-Brain Barrier Res. Center, Yamaguchi Uni. Sch. of Medicine)

Huntingtin-associated protein 1 (HAP1) is a core component of the stigmoid body (STB) and is known as a neuroprotective interactor with causal agents for several neurodegenerative diseases. We have previously shown that neurodegenerative target cholinergic motor neurons in the brainstem and spinal cord devoid of STB/HAP1 protectivity. While cholinergic neurons in the striatum and basal forebrain nuclei are another major neurodegenerative/psychotic target, the relationships of STB/HAP1 with choline acetyltransferase (ChAT) have yet to be determined there. In the current study, the relationships of STB/HAP1 with ChAT were immunohistochemically evaluated in light and fluorescence microscopy throughout the striatum, medial septal nucleus, vertical limb of the diagonal band, horizontal limb of the diagonal band, substantia innominata/nucleus basalis of Meynert in adult male mice. Our results showed that STB/HAP1-immunoreactive (ir) neurons were never co-expressed with ChAT in the striatum, and only a few ChAT-ir neurons (5-10%) contained STB/HAP1 immunoreactivity in the vertical/horizontal limb of the diagonal band and nucleus basalis of Meynert. In contrast, over 90% of cholinergic neurons in the medial septal nucleus contained STB/HAP1 immunoreactivity. These results suggest that due to deficient putative STB/HAP1-protectivity, cholinergic neurons in the striatum, vertical/horizontal limb of the diagonal band, and nucleus basalis of Meynert might be more vulnerable to certain neurodegenerative/psychotic stresses than STB/HAP1-expressing neurons in the median septum.

16 Neuroanatomical distribution of STB/HAP1 in the mice brainstem raphe nuclei and its immunohistochemical relationships with serotonin neurons

Marya Afrin¹、Md Nabiul Islam¹、Mirza Mienur Meher²、Mir Rubayet Jahan³、Jun Hirata¹、Kanao Nozaki¹、Koh-hei Masumoto¹、Akie Yanai²、Koh Shinoda¹ (¹Div. of Neuroanatomy, ²Dept. of Basic Laboratory Sciences, ³Blood-Brain Barrier Res. Center, Yamaguchi Uni. Sch. of Medicine)

Huntingtin-associated protein 1 (HAP1) is an essential component of the stigmoid body (STB) and is known as a possible neuroprotective interactor with causative proteins for several neurodegenerative diseases. In normal brains, it is abundantly expressed in the limbic-hypothalamic regions that tend to be spared from neurodegeneration, whereas the areas with little HAP1 expression, including the striatum, thalamus, cerebral neocortex, and cerebellum, are targets in several neurodegenerative diseases. We recently reported that STB/HAP1 is highly expressed in several areas of the mouse brainstem, including raphe nuclei where serotonin (5-HT) neurons are located. However, detailed neuroanatomical distribution of STB/HAP1 in raphe nuclei and morphological relationships with serotonin neurons have yet to be studied. In this study, we determined the expression of STB/HAP1-immunoreactive (ir) cells in the raphe nuclei and elucidated their immunohistochemical relationships with serotonin neurons using western blotting and light/fluorescence microscopy in mice. Our current results implicated that STB/HAP1 is highly expressed throughout the raphe nuclei. Double immunofluorescence staining for HAP1 and 5-HT revealed that about 90-97% of 5-HT-ir neurons contained STB/HAP1 immunoreactivity in rostral and caudal raphe nuclei. Intriguingly, HAP1-knockout mice showed disrupted ramification or arborization of the fibers of serotonin neurons. These results suggest that STB/HAP1 is crucial for modulating or protecting serotonergic functions plausibly by maintaining the integrity of the processes of serotonin neurons. Our current results may also lay a basic foundation for future studies that seek to clarify pathophysiological roles of STB/HAP1 in the raphe nuclei.

17 バヤン・ボラク遺跡出土の人骨群を用いた考古・法人類学的検討 (予報)

○岡崎健治¹、米元史織²、覚張隆史³、菊地大樹⁴、大谷育恵⁵、Enkhbayar Mijiddorj⁶、Diimaazhav Erdenebaatar⁶、Alexei Kovalev⁷

1 鳥取大・医・解剖、2 九州大・総合博、3 金沢大・文化資源、4 蘭州大・歴史文化、5 京都大・白眉、6 Ulaanbaatar Univ.、7 St. Petersburg State Univ.

モンゴル高原の人々は、東アジアの中でも先駆けて青銅器文化を受容し、騎馬を利用した遊牧という新たな生業を取り入れた。こうした初期遊牧民によって、鹿石ヘレクスールや板石墓などの建造物が残され、後の初期鉄器時代には匈奴国家が確立され、漢と対峙することになる。しかしながら、匈奴の成り立ちについては未解明な点が多く、例えば、初期遊牧民の由来について議論されているが、その複雑な構成は未だ明らかになっていない。本研究は、これまで調査してきた青銅器時代人骨の分析結果を基に、2023年9月に調査したモンゴル南東部のバヤン・ボラク遺跡から出土した匈奴期人骨群について報告する。バヤン・ボラク遺跡は、長城以北では数少ない匈奴期の城址遺構が検出され、その年代と地理的位置から歴史資料に記録される漢受降城に比定される。その城址近くから少なくとも 20 体以上の人骨群が密集し、一部の個体は身体部位の一部を欠いた状態で検出されている。これらの人骨群は、共存する遺物などの考古学的情報を基に、漢の騎兵が含まれることが示唆されている。今年度の調査では、これらの人骨群の基礎的整理作業を実施した。個体識別が可能であった 19 体において、頭部欠損は 5 体、上肢欠損は 1 体、下肢欠損は 1 体であった。性別は 19 体すべてが男性と判定された。年齢は、20 代から 40 代までの比較的若い成人から構成されていた。未だ整理途中の段階ではあるが、生前の外傷痕はみられたものの、死亡前後のものとは未確認である。形態観察が完了した 8 個体について、年代測定と同位体分析のため、骨コラーゲンを抽出した。

18 系統解剖実習の質向上に向けた解剖体固定法の検討

太田健一、桑井大輝、鈴木辰吾、大給日香里、三木崇範
香川大学 医学部 形態・機能医学講座 神経機能形態学

生体に近い質感を維持できる Thiel 法による解剖体固定は臨床医の手術手技向上だけでなく、医学生における系統解剖実習にも高い学習効果をもたらすはずである。しかし Thiel 固定液には多くの試薬が必要でありその作製や注入方法も煩雑であるため、系統解剖実習への導入には予算的・人員的な負担が大きい。この点を踏まえて我々は Thiel 固定液の組成を改変し、簡便で安価な固定液を従来通り大腿動脈から注入した解剖体で系統解剖実習における学習効果を検討している。これについて、第 125 回日本解剖学会総会にて学生から一定の評価を得たことは報告したが、本発表では固定法によるそれぞれの臓器での利点と問題点について、更に詳細な検討を行ったので報告する。

最大の利点は可動性で視野を妨げる部分を動かしながら学習したり、筋を直接引っ張る事で実際の作用を確認出来ることにあった。また従来よりも腱や靭帯が視認しやすいことや動脈と神経の区別もしやすい利点があったが、静脈は従来通りの固定の方が確認しやすかった。胸部内臓においても心臓の内部構造の観察がしやすい反面、肺の形状が維持しにくく学生には理解しにくいと考えられた。また腹部内臓は可動性が保たれていたが柔らか過ぎることで学生には学習しにくいと考えられ、この点が学生からの評価が芳しくなかった理由と考えられる。現在、胸部/腹部内臓の可動性と形状維持のバランスを考慮し、より学生にとっての学習効果の高い組成を検討中であるためその一部も紹介する (COI: なし)。

19 鳥取大学臨床解剖教育研修センターにおける CST の現状

谷島伸二¹⁾ 椋田崇生²⁾ 永島英樹¹⁾ 海藤俊行²⁾

1) 鳥取大学整形外科 2) 鳥取大学医学部 解剖学講座

【はじめに】鳥取大学医学部では 2019 年より臨床解剖教育研修センターが設置され、Cadaver Surgical Training (CST) を開始した。演者は実務委員長としてセンターの運営に携わっており、実務者の視点から本センターの現状について報告する。

【CST の現状】センターは 11 の診療科、医学教育学、新規医療研究推進センターおよび技術部で運営されている。ご遺体は Thiel 固定を用いている。主に研修を行っている診療科は形成外科、耳鼻咽喉科、消化器外科、整形外科、脳神経外科、泌尿器科であり、2019 年度 2 件、2020 年度 6 件、2021 年 10 件、2022 年度 8 件の研修が行われ延べ 261 名の医師が参加している。主な実習内容としては、後期研修医を中心とした基本手技トレーニング、専門医における高難度手術の手技取得であり、研修後のアンケートを見ると概ね良好な成果が得られている。また、本センターの試みとして、臨床医の視点から手術をするうえで重要な解剖のポイントを医学生向けに資料として作成し、医学生の系統解剖実習に使用している。今後は臨床医の系統解剖への参加も検討している。一方、実習において、指導医、参加者からそれぞれ研修を行う上での今後改善すべき点をコメントいただいております。今後見直しをしていく予定である。現在は各診療科では学内及び同門の医師の研修が大半であるが、今後は全国公募型の研修も予定しており、今後はさらに慎重な運営を行う必要があると考えている。